

Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat dari Teh Hijau Fermentasi

Aliyah Fahmi^{a,1}, Sumaryati Syukur^{b,1*}, Zulkarnain Chaidir^{b,2}, Sri Melia^{c,1}

^aFakultas Kesehatan, Universitas Efarina. Jl. Wilmar Saragih no.1, Pematang Siantar, 21143, North Sumatera, Indonesia

^bFakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas .Jl. Raya Unand, Limau Manis, Padang 25175, West Sumatera, Indonesia. Tel/fax +62-751-71671

^cFakultas Peternakan. Universitas Andalas. Jl. Raya Unand, Limau Manis, Padang, 25175, West Sumatera, Indonesia

¹alياهوfahmi0984@gmail.com; ²sumaryatisyukur@sci.unand.ac.id*; ³zulkarnainchaidir@sci.unand.ac.id; ⁴srimelia@ansci.unand.ac.id

*sumaryatisyukur@sci.unand.ac.id

INFO ARTIKEL

ABSTRAK

Diterima :
02-07-2022
Direvisi :
28-07-2022
Disetujui :
01-08-2022

Kata kunci:

Isolasi;
Karakterisasi;
Bakteri asam laktat;
Teh hijau;
Fermentasi.

Teh hijau adalah jenis teh yang tidak mengalami proses fermentasi akan tetapi mengalami proses pengeringan dan penguapan daun. Teh hijau memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi karena kandungan katekin di dalamnya. Namun bioavailabilitas katekin teh hijau berkurang pada saluran cerna karena kurang stabil. Kehadiran probiotik pada teh hijau diharapkan mampu meningkatkan bioavailabilitasnya. Bakteri Asam Laktat (BAL) merupakan kelompok bakteri baik yang merupakan probiotik yang berperan dalam menyehatkan saluran cerna. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan menguji karakterisasi BAL dari Teh Hijau Fermentasi. Teh hijau yang berasal dari Distributor Teh Juma, Kecamatan Sidamanik difermentasi dengan gula aren dan madu hutan dengan variasi waktu 24, 48 dan 72 jam pada suhu rendah. Teh hijau fermentasi kemudian diisolasi kemudian diencerkan dengan pengenceran 10^{-5} dan 10^{-6} . Hasil inkubasi selama 48 jam diperoleh kemudian dimurnikan dengan metode streak dan diinkubasi kembali selama 24 jam kemudian diuji karakterisasinya secara morfologi, pewarnaan gram, uji katalase dan uji fermentasi. Hasil yang diperoleh adalah pada uji morfologi positif BAL dengan ciri-ciri terlihat koloni tunggal dengan bentuk bulat, licin, warna putih kekuningan. dan terbentuk zona bening di sekitar koloni. Hasil pewarnaan positif BAL dengan ciri-ciri bakteri gram positif ditunjukkan oleh warna biru ke ungu. Hasil uji katalase ditunjukkan dengan ciri-ciri tidak menghasilkan gelembung udara yang menandakan adanya BAL karena BAL tidak mengandung oksigen serta uji fermentasi yang ditunjukkan dengan tidak terbentuknya gelembung udara pada tabung Durham yang menandakan tipe fermentasi BAL adalah homofermentatif.

Key word:

Isolation;
Characterization;
Lactic acid bacteria;
Green tea;
Fermentation;

ABSTRACT

Green tea is a type of tea that does not undergo a fermentation process but undergoes a process of drying and evaporation of the leaves. Green tea has high antioxidant activity due to the catechin content in it. However, the bioavailability of green tea catechins is reduced in the gastrointestinal tract because it is less stable. The presence of probiotics in green tea is expected to increase its bioavailability. Lactic Acid Bacteria (LAB) is a group of good bacteria which are probiotics that play a role in healthy gastrointestinal tract. This study aims to isolate and test the characterization of LAB from Fermented Green Tea. Green tea from Juma Tea Distributor, Sidamanik District was fermented with palm sugar and forest honey with variations of 24, 48 and 72 hours at low temperature. The fermented green tea was isolated and then diluted with 10^{-5} and 10^{-6} dilutions. The results of incubation for 48 hours were obtained and then purified by streak method and incubated again for 24 hours and then tested for morphological characterization, gram staining, catalase test and fermentation test. The results obtained were a positive morphological test of LAB with the characteristics of a single colony being seen with a round, smooth, yellowish white color, and a clear zone was formed around the colony. The results of positive LAB staining with gram-positive bacteria are indicated by a blue to

purple color. The results of the catalase test are indicated by the characteristics of not producing air bubbles which indicate the presence of LAB because LAB does not contain oxygen and the fermentation test is indicated by the absence of air bubbles in the Durham tube which indicates the type of LAB fermentation is homofermentative.

This is an open access article under the [CC-BY-SA](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/) license.



Pendahuluan

Sejarah teh hijau berawal dari Negara Cina yang telah menggunakan teh hijau sebagai pendukung pengobatan sejak ribuan tahun yang lalu. Sejarah bangsa Cina menyebutkan teh hijau mulai digunakan sebagai minuman sejak 2700 tahun sebelum Masehi pada dinasti Kaisar Shen Nung, namun tercatat dalam kamus kuno pada 350 tahun sebelum Masehi. Sekitar 200 tahun sebelum Masehi dalam buku tanaman obat Cina disebutkan daun teh berkhasiat menghilangkan racun dalam tubuh. Penanaman teh mulai dilakukan di mana-mana sejalan dengan makin meluasnya kebiasaan minum teh. Di Indonesia, tanaman teh pertama kali dibawa dan dikembangkan oleh penjajah Belanda hingga dapat diekspor ke Belanda. Sejak saat itu teh terus dikembangkan dan diperluas penanamannya. (KURNIAWAN, 2014)

Teh hijau adalah jenis teh yang tidak mengalami proses fermentasi akan tetapi mengalami proses pengeringan dan penguapan daun.

Katekin adalah polifenol paling melimpah yang ditemukan dalam daun teh hijau dan diyakini bertanggung jawab atas berbagai bioaktivitas yang telah diamati dalam studi teh hijau (Wang et al., 2018)

Teh hijau pada umumnya memiliki kandungan katekin yaitu (-) EGC (epigallocatechin), (-) GCG (galloocatechin gallate), -(-) -EGCG (epigallocatechin-3-gallate), - (-) ECG (epicatechin-3 gallate). EGCG sebagai sumber katekin utama dari teh hijau bermanfaat untuk kesehatan dan sudah banyak diteliti (Bae et al., 2020; Shen et al., 2012)

Teh hijau diaplikasikan untuk melindungi berbagai masalah kesehatan. Nutrisi, fungsi imunologis, farmakologis dan fisiologis teh hijau adalah karena komponen bioaktif yang tersedia seperti kafein, L-theanine, polifenol dan lain-lain, memiliki potensi multi-manfaat dalam mengobati dan mencegah berbagai gangguan hewan dan manusia. (Saeed et al., 2017)

Teh hijau adalah minuman yang aman, tidak beracun, dan murah yang pernah dilaporkan memiliki efek antimikroba terhadap berbagai

bakteri patogen termasuk *E. coli*. (Noormandi & Dabaghzadeh, 2015)

Melalui percobaan seluler, hewan, dan manusia, teh hijau dan komponen utamanya, epigallocatechin-3-gallate (EGCG) telah dibuktikan memiliki efek anti-inflamasi. Teh hijau dan EGCG menekan gen tersebut dan ekspresi protein dari sitokin inflamasi dan enzim yang berhubungan dengan inflamasi. (Ohishi et al., 2016)

Ekstrak teh hijau yang difermentasi menunjukkan efek antiobesitas karena dapat mengurangi penambahan berat badan dan massa lemak tanpa mengubah asupan makanan. Tingkat ekspresi mRNA dari gen lipogenik dan inflamasi diturunkan regulasi dalam jaringan adiposa mencit yang diberikan ekstrak teh hijau fermentasi sehingga dapat mengurangi intoleransi glukosa dan gejala hati berlemak. Ekstrak teh hijau fermentasi dapat memulihkan perubahan komposisi mikrobiota usus (misalnya, rasio *Firmicutes/Bacteroidetes* dan *Bacteroides/Prevotella*) (Seo et al., 2015)

Penelitian lain yang berkaitan dengan teh hijau suplemen terhadap probiotik pada jangka 7 hari menunjukkan mikrobiota sekum dan metabolom sekum/kulit pada mencit menunjukkan efek luar biasa. Analisis biplot mengungkapkan bahwa *Bifidobacteria* dan *Lactobacillus spp* sangat dipengaruhi oleh suplementasi ekstrak teh hijau jangka pendek tersebut. (Jung et al., 2019)

Suplementasi 2 % teh hijau dan teh hitam terhadap sampel yogurt dianalisis aktivitas antimikroba dan antioksidan selama 21 hari penyimpanan yang menunjukkan sampel yang mengandung teh hijau mempunyai efek yang lebih unggul dari teh hitam. (Gulfem et al., 2018)

Produk fermentasi antiobesitas baru yaitu kombinasi daun *H. cordata* dengan daun teh hijau menggunakan *Lactobacillus paracasei subsp.* Pengaturan faktor adipogenesis dan efek antiobesitas teh yang difermentasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa teh fermentasi NTU 101, yang mengandung kadar EGCG, EGC, dan asam klorogenat yang lebih tinggi dibandingkan teh yang tidak difermentasi dan berpengaruh terhadap adipogenesis dan efek antiobesitas. (Wang et al., 2018)

Teh hijau dan konstituennya menawarkan pengobatan herbal terkuat untuk kelainan hati. Sejumlah besar polifenol dengan gugus galloil efektif terbukti menawarkan perlindungannya pada tingkat seluler, biokimia dan molekuler yang mempengaruhi sejumlah besar jalur metabolisme. (Maiti et al., 2019)

Selain faktor geografis, ada beberapa faktor lain yang dapat mempengaruhi kualitas teh diantaranya yaitu umur daun, jenis petikan dan varietas serta klon. (Anjarsari, 2016)

Seduhan teh dan produk berbahan dasar teh umumnya dianggap aman bagi konsumen, karena berdampak merugikan pada hewan dan manusia jarang dilaporkan. Meskipun logam berat, residu pestisida, dan mikotoksin dapat dideteksi dalam sampel teh tertentu, Karena itu, konsumsi teh dapat direkomendasikan kepada masyarakat untuk pencegahan dan pengobatan penyakit kronis. Selain itu, teh dapat diolah menjadi minuman, makanan fungsional, dan obat-obatan. (Bae et al., 2020)

Epigallo catechin gallat (EGCG) merupakan turunan katekin paling banyak pada daun teh hijau yang memiliki sifat antioksidan yang kuat namun sifatnya kurang stabil sehingga bioaksebitasnya sangat berkurang saat masuk saluran cerna. Namun dengan kehadiran bakteri asam laktat pada teh hijau fermentasi diharapkan dapat meningkatkan aksebitasnya ketika melewati saluran cerna.

Metode

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat gelas (pyrex), neraca analitik (acys), autoclave, inkubator, cawan petri, stik *hockey*, refrigerator, lemari asam, dehidrator, termometer, spatula, pipet mikro, tips pipet, bunsen, rak tabung reaksi, jarum ose.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah teh hijau (Juma), madu hutan (madu Al-hafizh) gula merah, MRS agar (p.a Merck), MRS broth (p.a Merck), aquadest, alkohol (Brataco), spritus, hidrogen peroksida (Brataco), metanol (Brataco), safranin (*R&M chemicals*), iodine, kristal violet (*R&M chemicals*), minyak imersi.

Jalannya Penelitian

Fermentasi Teh Hijau dengan madu hutan

Ditimbang ± 20 g teh hijau kemudian dimasukkan ke dalam gelas jar. Ditimbang ± 4 ml madu hutan ke dalam gelas jar dan 5 ml aquadest hangat (40 0 C) kemudian diaduk perlahan dengan spatula sampai madu hutan larut. Ditutup gelas jar dan diletakkan pada ruangan tertutup dengan variasi waktu 24, 48 dan 72 jam. Selanjutnya dikeringkan

pada dehidrator pada suhu rendah. (Sampel 1,2, dan 3) (Jin et al., 2021)

Fermentasi Teh Hijau dengan gula aren

Ditimbang ± 20 g teh hijau kemudian dimasukkan ke dalam gelas jar. Ditimbang ± 4 g gula aren ke dalam gelas jar dan 5 ml aquadest hangat (40 0 C) kemudian diaduk perlahan dengan spatula sampai gula aren larut. Ditutup gelas jar dan diletakkan pada ruangan tertutup dengan variasi waktu 24, 48 dan 72 jam. Selanjutnya dikeringkan pada dehidrator pada suhu rendah. (Sampel 4,5 dan 6) (Jin et al., 2021)

Isolasi BAL

Disiapkan media enrichment dengan melarutkan 23,02 g MRS Broth (Merck) dalam 441 ml aquadest dan 1 % CaCO₃ kemudian dipanaskan sambil dihomogenisasi dengan hot plate stirrer pada suhu 100 ° C, dibiarkan suhu turun ± 55 ° C dan dituang ke gelas Erlenmeyer dan diautoklaf (waktu 15 menit, suhu 121 ° C dan tekanan 15 lbs). Disiapkam media MRS agar (Merck) dengan melarutkan sebanyak 66,20 g MRS agar dalam 1 L aquadest, kemudian dipanaskan sambil dihomogenisasi dengan hot plate stirrer pada suhu 100 ° C, dibiarkan suhu turun ± 55 ° C dan diautoklaf (waktu 15 menit, suhu 121 ° C dan tekanan 15 lbs) selanjutnya dituang ke dalam masing-masing cawan petri sebanyak ± 15 ml, dibiarkan memadat. Ditimbang masing-masing 1 g sampel 1,2,3,4,5 dan 6 dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah diisi dengan 9 ml MRS broth, ditutup dan dihomogenkan kemudian dimasukkan ke dalam anaerob jar dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 ° C (Sebagai pengenceran 10⁻¹). Hasil 10⁻¹ diambil 1ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml MRS broth, ditutup dan dihomogenkan kemudian dimasukkan ke dalam anaerob jar dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 0 C (Sebagai pengenceran 10⁻²), begitu seterusnya sampai pada pengenceran 10⁻⁶. Dari pengenceran 10⁻⁵ dan 10⁻⁶, masing-masing diambil 100 µl dan ditanam sebagai inokulum dengan metode spread pada cawan petri berisi MRS agar kemudian diratakan menggunakan stik hockey yang telah disterilkan dengan alkohol dan dibakar dengan Bunsen serta diangin-anginkan. Masing-masing cawan petri diberi tanda. Dimasukkan ke dalam anaerob jar kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37 ° C. Diambil cawan petri hasil inkubasi dan diamati. Jika terlihat koloni tunggal (single colony) dengan bentuk bulat, licin, warna putih kekuningan dan terbentuk zona bening di sekitar koloni

menandakan ciri-ciri bakteri asam laktat. Selanjutnya koloni tunggal tersebut dimurnikan dengan metode streak yaitu mengambil koloni tunggal menggunakan jarum ose steril, di streak pada cawan petri berisi MRS kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37 ° C. (Sri, 2018)

Karakteristik BAL Teh Hijau Fermentasi

Morfologi BAL

Karakteristik BAL secara morfologi dapat diamati secara makroskopik dan mikroskopik. Secara visual dapat diamati karakteristik dari koloni BAL yaitu bentuk koloni, bentuk tepi dan elevasi.

Biokimia

Pewarnaan gram

Menurut Harley dan Prescott (2002) sebagai berikut: 1) diambil biakan bakteri dan diratakan di atas kaca objek, 2) ditetesi dengan Kristal violet dan ditunggu 60 detik, 3) dibilas dengan aquadest mengalir, 4) ditetesi dengan larutan iodin kompleks, ditunggu 60 detik lalu dibilas dengan aquadest mengalir, 5) dicuci dengan alkohol 96 % dan dibilas aquadest mengalir, 6) ditetesi safranin lalu ditunggu 30 detik dan dibilas dengan aquadest, 7) dikeringkan dan diperiksa di bawah mikroskop (1000 x) menggunakan minyak imersi. Bakteri gram positif ditunjukkan dengan warna biru ke ungu dan bakteri gram negatif ditunjukkan oleh warna merah muda ke merah. (Sri, 2018)

Uji katalase

Ditestkan kultur yang berumur 24 jam pada gelas objek kemudian ditetaskan 2 tetes H₂O₂ 3 %. Reaksi positif katalase ditunjukkan dengan terbentuknya gelembung yang artinya pembentukan oksigen oleh enzim katalase yang terdapat pada bakteri pada kultur. BAL termasuk bakteri katalase negatif sehingga tidak menghasilkan gelembung udara. (Sri, 2018)

Uji tipe fermentasi

Dimasukkan 1 ml isolat BAL ke dalam 9 ml MRS Broth pada tabung reaksi, kemudian dimasukkan tabung durham dengan posisi terbalik, setelah itu diinkubasi selama 48 jam dan dilakukan pengamatan dengan melihat ada tidaknya gelembung udara pada tabung durham. (Sri, 2018)

Hasil dan Pembahasan

Fermentasi Teh Hijau

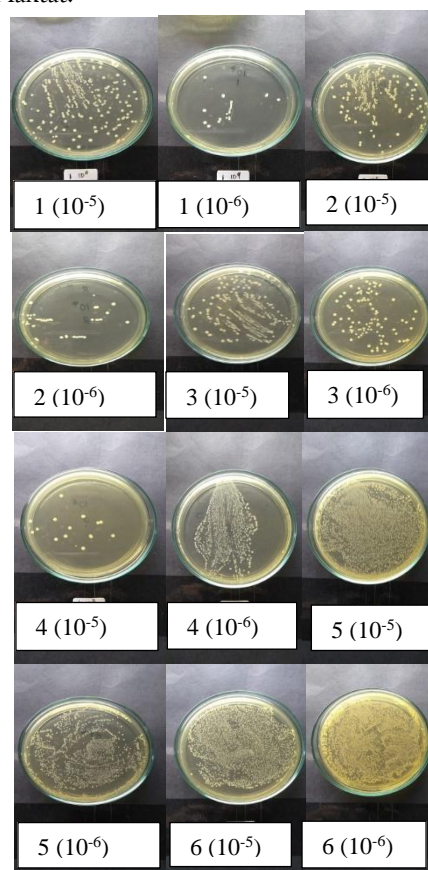
Dari hasil fermentasi yang dilakukan terhadap 6 sampel teh hijau yang dikeringkan di dehydrator pada suhu rendah di peroleh daun teh hijau fermentasi yang kering dan beraroma.



Gambar 1. Teh hijau di dalam dehidrator

Isolasi BAL

Dari isolasi 6 sampel daun teh hijau fermentasi pada pengenceran 10⁻⁵ dan 10⁻⁶ maka dapat dilihat terbentuknya koloni bulat yang mencirikan bakteri asam laktat.



Gambar 2. Hasil Isolasi BAL dari 6 sampel (1, 2, 3, 4, 5, 6) pada pengenceran 10⁻⁵ dan 10⁻⁶

Dari ke 12 plate cawan petri maka yang diteruskan untuk proses striking adalah sampel 1,2,3 dan 4 dengan dua pengulangan (1.1; 1.2; 2.1;2.2;3.1;3.2;4.1; dan 4.2).



Gambar 3. Hasil streaking isolat BAL

Ketika sudah diperoleh isolat murni maka proses selanjutnya adalah karakterisasi BAL. BAL hanya dapat memperoleh ATP melalui fermentasi, biasanya gula, sampel teh hijau difermentasikan dengan madu dan gula merah yang kaya akan sumber gula. BAL tidak menggunakan oksigen dalam produksi energinya dan dapat tumbuh dalam kondisi anaerobik, tetapi mereka juga dapat tumbuh dengan adanya oksigen. (Khalid, 2011)

Pewarnaan gram

Dari gambar dibawah ini dapat dilihat hasil pewarnaan gram ke 8 plat adalah positif dengan menunjukkan bakteri yang berwarna biru-ungu pada pengamatan mikroskop dengan pembesaran 1000 kali. Bakteri Gram positif ditandai dengan warna biru ungu karena mampu mengikat kristal violet. Bakteri Gram negatif ditandai dengan terbentuknya warna merah muda karena tidak mampu mengikat warna kristal violet dan hanya terwarnai oleh safranin. Dinding sel bakteri Gram positif mengandung 90% peptidoglikan dan selebihnya adalah asam tekoat dan membentuk ikatan kompleks dengan pewarna utama yaitu kristal violet. (Ismail et al., 2017)

Uji Katalase

Isolat ditambahkan I-2 tetes hidrogen peroksida, dibiarkan dan diamati apakah terbentuk gelembung udara atau tidak, BAL termasuk bakteri katalase negatif artinya BAL tidak memproduksi oksigen sehingga tidak menghasilkan gelembung udara. (Bergey, 1994)

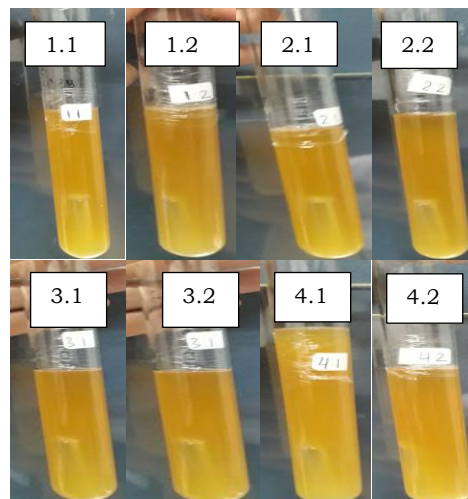
Tabel I. Uji Katalase

No	Kode Isolat	Hasil
1	1.1	-
2	1.2	-
3	2.1	-
4	2.2	-
5	3.1	-
6	3.2	-
7	4.1	-
8	4.2	-

Catatan (+) jika terbentuk gelembung udara, (-) jika tidak terbentuk gelembung udara

Uji Fermentatif dengan Tabung Durham

Hasil uji fermentatif dengan metode tabung durham dapat di lihat pada gambar serta tabel berikut ini.



Gambar 4. Uji fermentatif dengan tabung Durham isolat BAL 1.1; 1.2; 2.1; 2.2; 3.1; 3.2; 4.1; 4.2

Tabel 2. Uji fermentatif

No	Kode Isolat	Hasil
	1.1	-
	1.2	-
	2.1	-
	2.2	-
	3.1	-
	3.2	-
	4.1	-
	4.2	-

Nb: tanda (+) menandakan fermentasi bersifat heterofermentatif ditandai dengan terbentuknya gelembung udara pada tabung durham; tanda (-) menandakan fermentasi bersifat homofermentatif ditandai dengan tidak terbentuknya gelembung udara pada tabung durham. Fermentasi homofermentatif dimaksudkan karena sebagian besar hasil akhir fermentasi adalah asam laktat sedangkan fermentasi heterofermentatif menghasilkan produk fermentasi asam laktat, asam asetat, etanol dan karbondioksida. (Nur, 2018)

Simpulan dan Saran

Teh hijau yang berasal dari Distributor Juma yang terletak di kecamatan Sidamanik difermentasikan menghasilkan bakteri asam laktat yang telah diisolasi dan dikarakterisasi melalui pewarnaan gram, uji katalase dan uji fermentatif menggunakan tabung durham.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih Penulis kepada Kemenristek-dikti skema PDD tahun 2022.

Daftar Pustaka

- Anjarsari, I. R. D. (2016). Katekin teh Indonesia: prospek dan manfaatnya. *Kultivasi*, 15(2).
- Bae, J., Kim, N., Shin, Y., Kim, S.-Y., & Kim, Y.-J. (2020). Activity of catechins and their applications. *Biomedical Dermatology*, 4(1), 1–10.
- Bergey, D. H. (1994). *Bergey's manual of determinative bacteriology*. Lippincott Williams & Wilkins.
- Gülfem, Ü., Karagözlü, C., KINIK, Ö., Ecem, A., & AKALIN, A. S. (2018). Effect of supplementation with green and black tea on microbiological characteristics, antimicrobial and antioxidant activities of drinking yoghurt. *Journal of Agricultural Sciences*, 24(2), 153–161.
- Ismail, Y. S., Yulvizar, C., & Putriani, P. (2017). Isolasi, karakterisasi dan uji aktivitas antimikroba bakteri asam laktat dari fermentasi biji kakao (*Theobroma cacao* L.). *Jurnal Bioleuser*, 1(2).
- Jin, Y. H., Hong, J. H., Lee, J.-H., Yoon, H., Pawluk, A. M., Yun, S. J., & Mah, J.-H. (2021). Lactic Acid Fermented Green Tea with *Levilactobacillus brevis* Capable of Producing γ -Aminobutyric Acid. *Fermentation*, 7(3), 110.
- Jung, E. S., Park, H., Holzapfel, W., Hwang, J. S., & Lee, C. H. (2019). Seven-day green tea supplementation revamps gut microbiome and caecum/skin metabolome in mice from stress. *Scientific Reports*, 9(1), 1–11.
- Khalid, K. (2011). An overview of lactic acid bacteria. *Int. J. Biosci*, 1(3), 1–13.
- KURNIAWAN, B. I. (2014). *PERKEMBANGAN TEH INDONESIA SERTA FAKTOR-FAKTOR YANG MEMPENGARUHI EKSPOR TEH INDONESIA DI PASAR INTERNASIONAL*. University of Muhammadiyah Malang.
- Maiti, S., Nazmeen, A., Medda, N., Patra, R., & Ghosh, T. K. (2019). Flavonoids green tea against oxidant stress and inflammation with related human diseases. *Clinical Nutrition Experimental*, 24, 1–14.
- Noormandi, A., & Dabaghzadeh, F. (2015). Effects of green tea on *Escherichia coli* as a uropathogen. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 5(1), 15–20.
- Nur, H. S. (2018). Pembentukan asam organik oleh isolat bakteri asam laktat pada media ekstrak daging buah durian (*Durio Zibethinus* Murr.). *Bioscientiae*, 2(1).
- Ohishi, T., Goto, S., Monira, P., Isemura, M., & Nakamura, Y. (2016). Anti-inflammatory action of green tea. *Anti-Inflammatory & Anti-Allergy Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Inflammatory and Anti-Allergy Agents)*, 15(2), 74–90.
- Saeed, M., El-Hack, M. E. A., Alagawany, M., Naveed, M., Arain, M. A., Arif, M., Soomro, R. N., Kakar, M., Manzoor, R., & Tiwari, R. (2017). Phytochemistry, modes of action and beneficial health applications of green tea (*Camellia sinensis*) in humans and animals. *International Journal of Pharmacology*, 13(7), 698–708.
- Seo, D.-B., Jeong, H. W., Cho, D., Lee, B. J., Lee, J. H., Choi, J. Y., Bae, I.-H., & Lee, S.-J. (2015). Fermented green tea extract alleviates obesity and related complications and alters gut microbiota composition in diet-induced obese mice. *Journal of Medicinal Food*, 18(5), 549–556.
- Shen, J.-M., Liu, X.-Y., Tang, W.-J., Wang, J., & Zhang, H.-X. (2012). Efficient isolation of catechins from green tea and characterization of interaction property of catechins with proteins by HPLC–UV/DAD combined with ultrafiltration. *Medicinal Chemistry Research*, 21(11), 3549–3556.
- Sri, M. (2018). *Potensi Isolat Bakteri Asam Laktat Dari Susu Kerbau sebagai Probiotik dan Penghasil Bakteriosin Untuk Pangan Fungsional*. Universitas Andalas.
- Wang, L.-C., Pan, T.-M., & Tsai, T.-Y. (2018). Lactic acid bacteria-fermented product of green tea and *Houttuynia cordata* leaves exerts anti-adipogenic and anti-obesity effects. *Journal of Food and Drug Analysis*, 26(3), 973–984.